ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.01838v1

饲料或养殖水体中添加地衣芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长性能和免疫力的影响[1]

刘强强[1,2]　陈　旭[2]　谢家俊[2,3]　张　琳[4]　牛　津[1,5*]

（1.天津农学院，天津 300384；2.中国水产科学院南海水产研究所，广州 510300；3.上海海洋大学，上海 201306；4.帝斯曼（中国）有限公司，上海 201203；5.中山大学，广州 510300）

摘　要：本试验通过 2 个子试验来研究饲料或养殖水体中添加地衣芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长性能和免疫力的影响。2 个子试验所用凡纳滨对虾的初始均重均为 1.06 g 左右。在试验 1 中，5 组对虾分别饲喂在基础饲料中添加 0（D1 组，作为空白对照组）、0.3（D2 组）、3.0（D3 组）、30.0 mg/kg 地衣芽孢杆菌（D4 组）和 80.0 mg/kg 益生菌 A（为市售复合益生菌制剂；D5 组，作为阳性对照组）的 5 种试验饲料；在试验 2 中，4 组对虾全部投喂试验 1 中 D1 组饲料，并在试验开始前向 1 m×1 m×1 m 水泥池（有效水深 0.7 m）的水体中分别投入 0（d1 组，即 D1 组）、0.4（d2 组）、4.0 mg 地衣芽孢杆菌（d3 组）和 40.0 mg 益生菌 B（为市售复合益生菌净水剂；d4 组，作为阳性对照组），此后每隔 7 d 再分别补充 0、0.2、2.0 mg 地衣芽孢杆菌和 20.0 mg 益生菌 B。每组均设 6 个水泥池，每个水泥池放养 80 尾对虾。试验 1 和试验 2 饲养时间均为 8 周。试验 1 结果表明：D1～D4 组对虾的终末均重显著高于 D5 组（$P<0.05$），但 D1～D4 组之间没有显著差异（$P>0.05$）；D2 组对虾的增重率和特定生长率显著高于 D5 组（$P<0.05$）但与 D1、D3 和 D4 组没有显著差异（$P>0.05$）；D2、D3、D4 组对虾的饲料系数显著低于 D1 组（$P<0.05$），但与 D5 组没有显著差异（$P>0.05$）；D4 组对虾的成活率显著高于其他各组（$P>0.05$）。对虾肝胰腺超氧化物歧化酶（SOD）活性在 D2 和 D5 组较高，且显著高于其他各组（$P<0.05$）；对虾肝胰腺总抗氧化能力（T-AOC）在 D4 组最高，且显著高于其他各组（$P<0.05$）；对虾肝胰腺丙二醛（MDA）含量随着饲料中地衣芽孢杆菌添加量的增加而降低，以 D4 组对虾肝胰腺 MDA 含量最低，且显著低于 D1、D2、D3 饲料组（$P<0.05$），但与 D5 组没有显著性差异（$P>0.05$）。试验 2 结果表明：养殖水体中补充地衣芽孢杆菌对对虾的终末均重、增重率、特定生长率和饲料系数均没有产生显著影响（$P>0.05$）；d3 组对虾肝胰腺碱性磷酸酶（AKP）、SOD 活性和 T-AOC 最高，且显著高于其他各组（$P<0.05$）；d2 组对虾肝胰腺溶菌酶（LZM）活性最高，且显著高于其他各组（$P<0.05$）；d1 组对虾肝胰腺 MDA 含量最高，且显著高于其他各组（$P<0.05$）。上述结果表

收稿日期：2017-02-01
基金项目：
作者简介：刘强强（1988-），男，河南焦作人，硕士研究生，研究方向水产动物营养与饲料。E-mail: scxylqq@163.com
*通信作者：牛　津，副教授，硕士生导师，E-mail: gzniujin2003@163.com

明，地衣芽孢杆菌无论是直接添加在饲料中还是直接泼洒在养殖水体中都能提高凡纳滨对虾的免疫力；综合考虑凡纳滨对虾的生长性能和免疫力，地衣芽孢杆菌在饲料或养殖水体中的添加效果优于益生菌 A 或益生菌 B；综合试验 1 和试验 2 的结果，地衣芽孢杆菌在凡纳滨对虾饲料中的添加量应控制在 0.3～3.0 mg/kg。

关键词：地衣芽孢杆菌；凡纳滨对虾；生长性能；免疫力

中图分类号：S963　　文献标识码：A　　文章编号：

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)又称南美白对虾，是当今世界养殖产量最高的三大虾类之一，由于其良好的经济效益，2001 年以来在我国的养殖面积不断扩大，但随着人们追求经济效益而开发出的高密度、集约化等养殖模式大规模普及，随之而来的是病害的大规模的爆发，传统治疗方法大量使用抗生素导致抗药菌株的产生[1]并对水体造成二次污染，水产动物身上抗生素的残留更是引起人们对食品安全的担心。至此，寻找绿色、安全、环保的抗生素替代品成了研究热点[2-4]。

益生菌是一种活的微生物添加剂，适当的浓度可以通过影响与动物相关的微生物群落来改善动物对营养物质的利用和对疾病的抗性或者改善水质而有益于动物健康与生长。地衣芽孢杆菌（*Bacillus licheniformis*）是芽孢杆菌属的一种益生菌，因其良好的耐高温高压性，而在水产益生菌领域被大量研究。曹煜成等[5-6]研究发现，在水体中添加地衣芽孢杆菌可以显著提高凡纳滨对虾肝胰腺热休克蛋白 70（*HSP*70）mRNA 的表达量，可以显著降解凡纳滨对虾的粪便；Li 等[7]研究发现，饲料中添加地衣芽孢杆可以显著降低南美白对虾肠道弧菌的数量，之后胡毅等[8]的研究也证实了这一点。对于地衣芽孢杆菌的研究，国内外目前主要集中在鱼类上，如曹煜成等[9-10]对黄鳍鲷（*Acanthopagrus latus*）、草鱼（*Ctenopharyngodon idellusp*）的研究，Avella 等[11]对海鲷（*Sparus sarba*）的研究以及李卓佳等[12]对尖吻鲈（*Lates calcarifer*）的研究。因此，本试验设计了 2 个子试验，其中试验 1 是将 4 个地衣芽孢杆菌梯度添加到饲料中且与市售同类益生菌产品在提高凡纳滨对虾生长性能和免疫力方面进行效果比较，试验 2 是将 3 个地衣芽孢杆菌梯度添加到养殖水体中且与市售同类益生菌产品在提高凡纳滨对虾生长性能和免疫力方面进行效果比较，以期为凡纳滨对虾饲料添加剂的研究提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验使用的地衣芽孢杆菌制剂为荷兰帝斯曼（DSM）公司提供的高浓度水产专用益

chinaXiv:201711.01838v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.01838v1

生菌，每克地衣芽孢杆菌数量不少于 1×10^{11} CFU。市售益生菌 A 为丹麦科汉森公司产品，主要成分为地衣芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌，为匀质、喷雾干燥后混合的复合益生菌制剂，在陆地动物猪上已得到广泛应用，还未有在水产动物中应用的报道。市售益生菌 B 为丹麦维诺信生物公司产品，是由 7 种不同芽孢杆菌按一定比例配制成的复合益生菌净水剂，已经在中国对虾（*Fenneropenaeus chinensis*）[13]、河蟹（*Eriocheir japonica*）[14]和日本对虾（*Penaeus japonicus*）[15]等水产动物上取得不错的效果，可以在一定程度上改善养殖水体的水质。

1.2　试验方法

选取初始均重为 1.06 g 左右的凡纳滨对虾作为试验动物。在试验开始前将试验虾放入 1 m×1 m×1 m 水泥池（有效水深 0.7 m）中暂养 1 周，以便它们适应试验条件，暂养期间投喂商品饲料。暂养结束后开始正式试验。挑选规格一致的 3 840 尾健康凡纳滨对虾，放养在 48 个上述水泥池中，每 6 个水泥池为 1 组，每池放养 80 尾。本试验共进行 2 个子试验。在试验 1 中，随机选取 5 组试验虾，分别饲喂在基础饲料中添加 0（D1 组，作为空白对照组）、0.3（D2 组）、3.0（D3 组）、30.0 mg/kg 地衣芽孢杆菌（D4 组）和 80.0 mg/kg 益生菌 A（D5 组，作为阳性对照组）的 5 种试验饲料；在试验 2 中，随机选取 3 组试验虾，全部投喂试验 1 中 D1 组饲料，并在试验开始前向 1 m^3 养殖水泥池的水体中分别投入 0.4（d2 组）、4.0 mg 地衣芽孢杆菌（d3 组）和 40.0 mg 益生菌 B（d4 组，作为阳性对照），此后每隔 7 d 再分别补充 0、0.2、2.0 mg 地衣芽孢杆菌和 20.0 mg 益生菌 B 于水体中。试验 1 和试验 2 为共同空白对照组，因此试验 1 中 D1 组也为试验 2 的空白对照组，在试验 2 中命名为 d1 组。

1.3 试验饲料

基于试验 1 要求配制 5 种试验饲料，其组成及营养水平如表 1 所示。所有饲料原料先经粉碎，再过 80 目筛过滤，随后按表 1 中配方的比例准确称重并初步混合后，在商用饲料搅拌机（A-200T Mixer Bench Model Unit，加拿大）中搅拌 15 min，之后加入预先混匀的鱼油、豆油和大豆卵磷脂，再搅拌 15 min，再加入大约 40%的蒸馏水（体积/重量），继续搅拌 15 min，用双螺杆挤条机（华南理工大学机械工程研究所制作）挤压成粒径为 1.2 mm 的饲料颗粒，经打磨后在 60 ℃的烘箱中烘 2 h，每 0.5 h 翻 1 次，然后在空调房中抽干至水分含量少于 10%，而后用封口塑料袋分装，标记储存于－20 ℃的冰柜中备用。

表 1　试验饲料组成及营养水平（干物质基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)　%

项目 Items	组别 Groups

ChinaXiv合作期刊

	D1	D2	D3	D4	D5
原料 Ingredients					
鱼粉 Fish meal	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
豆粕 Soybean meal	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
花生粕 Peanut meal	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
面粉 Peanut meal	19.7	19.7	19.7	19.7	19.7
啤酒酵母 Beer yeast	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
虾头粉 Shrimp head meals	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
鱼油 Fish oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
豆油 Soybean oil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
胆固醇 Cholesterol	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素 C 磷酸酯 Ascorbic Phosphate ester	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
维生素预混料 Vitamin premix[1)]	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
矿物质预混料 Mineral premix[2)]	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-蛋氨酸 *DL*-methionine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
羧甲基纤维素 CMC	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
合计 Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
每千克饲料中额外添加 Additional supplementation per kg of diets/mg					
地衣芽孢杆菌 *Baclicus lincheniformis*		0.3	3.0	30.0	
益生菌 A Probiotics A					80.0
营养水平 Nutrient levels[3)]					
粗蛋白质 Crude protein	40.55	40.23	40.31	39.93	39.91
粗脂肪 Crude lipid	7.17	6.63	6.65	6.84	6.92
粗灰分 Ash	9.48	9.35	9.25	9.27	9.41
水分 Moisture	10.48	10.44	10.30	10.98	11.21

[1)]每千克维生素预混料含有 Contained the following per kg of vitamin premix：VA 250 000 IU，VC 7 000

chinaXiv:201711.01838v1

mg，叶酸 folic acid 125 mg，生物素 biotin 10 mg，核黄素 riboflavin 750 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 1 250 mg，盐酸吡哆醇 pyridoxine hydrochloride 400 mg，氰钴胺 cyanocobalamin 1 mg，硫胺素 thiamin 250 mg，甲萘醌 menadione 250 mg，α-生育酚 α-tocopherol 2.5 g，肌醇 *myo*-inositol 8 000mg，烟酸 nicotinic acid 2 000 mg，氯化胆碱 choline chloride 8 000 mg，VD_3 45 000 IU，纤维素做填充剂 cellulose was used as a carrier。

2) 每千克矿物质预混料含有 Contained the following per kg of mineral premix：$ZnSO_4·7H_2O$ 0.04 g，KCl 5.3g，KI 0.04g，NaCl 2.6g，$CuSO_4·5H_2O$ 0.02 g，$MnSO_4·H_2O$ 0.03 g，$CaCO_3$ 37.9 g，$MgSO_4·7H_2O$ 3.5 g，$Ca(H_2PO_4)_2·2H_2O$ 9.8 g，$CoSO_4·7H_2O$ 0.02g，$FeSO_4·7H_2O$ 0.9 g，纤维素做填充剂 cellulose was used as a carrier。

3) 营养水平为实测值 Nutrient levels were measured values。

1.4 饲养管理

试验期间每天投喂 3 次（投喂时间分别为 07:00、15:00 和 22:00），前 3 周不换水，之后每周换水 1 次（每次换水量为总水量的 2/7）；初始投喂量按初始体重的 6%计算，之后根据实际吃料情况每天进行调整。饲养期间水温（27±2） ℃，盐度 32±2，连续充气，试验期间测定水温、盐度、pH、溶氧浓度、氨氮浓度等水质指标，使其在正常范围内。试验 1 和试验 2 饲养时间均为 8 周。

1.5 指标测定与计算

1.5.1 生长指标

饲养试验结束后，饥饿处理 24 h，然后称量每池虾的终末总体重并记录存活数，用以计算增重率、特定生长率、成活率和饲料系数，计算公式如下：

增重率(%)=100×（终末均重-初始均重）/初始均重;

特定生长率(%/d)=100×(ln 终末均重–ln 初始均重)/试验天数;

成活率(%)=100×终末虾尾数/初始虾尾数;

饲料系数=摄食饲料干重/（终末体重-初始体重）。

1.5.2 常规营养成分

饲养试验结束后，饥饿处理 24 h，然后每池随机取 3 尾虾，-80 ℃冰箱中保存待测全虾常规营养成分；每池另随机取 3 尾虾，-80 ℃冰箱中保存待测肌肉常规营养成分。饲料、全虾和肌肉常规营养成分参照 AOAC（1995）[16]的方法测定。

1.5.3 肝胰腺免疫指标

饲养试验结束后，饥饿处理 24 h，然后每池随机取 6 尾虾，取出肝胰腺后置于 2 mL 离心管中，立刻放于液氮中保存，全部取完后从液氮罐中取出置于-80 ℃冰箱中保存，待测。

测定前，准确称取肝胰腺重量，按重量（g）：体积（mL）=1：9 的比例加入 9 倍体积的已预冷的生理盐水，冰水浴条件下制成 10%的组织匀浆液，4 ℃、2 500 r/min 离心 10 min，

chinaXiv:201711.01838v1

chinaXiv:201711.01838v1

取上清待测。肝胰腺总蛋白、丙二醛（MDA）含量，总抗氧化能力（T-AOC），超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶（AKP）、碱性磷酸酶（ACP）、溶菌酶（LZM）活性测定所用试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.6　数据分析

全部试验数据采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析，当有显著差异时再用 Duncan 法进行多重比较，P<0.05 表示显著性差异。数据用平均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾生长性能、体组成和肝胰腺免疫指标的影响

2.1.1 饲料中添地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 2 可知，随着地衣芽孢杆菌添加量的升高，凡纳滨对虾的终末均重、增重率和特定生长率呈现先升高后降低的趋势。D2 组凡纳滨对虾的终末均重、增重率和特定生长率在各组间最高，且显著高于 D5 组（P<0.05），但与其他组之间没有显著差异（P>0.05）。与 D1 组相比，饲料中添加地衣芽孢杆菌的 D2、D3 和 D4 组凡纳滨对虾的饲料系数显著降低（P<0.05）且成活率也有不同程度提高，成活率在 D4 组达到最高（94.25%）并显著高于 D1 组（P<0.05）。

表 2　饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾生长性能的影响

Table 2　Effects of adding *Baclicus lincheniformis* or probiotics A to diet on growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
初始均重 IBW/g	1.06±0.01	1.05±0.01	1.06±0.01	1.06±0.01	1.05±0.01
终末均重 FBW/g	16.07±0.10^{b}	16.23±0.39^{b}	16.17±0.12^{b}	16.10±0.12^{b}	15.29±0.87^{a}
总摄食量 TF/g	1 657±47^{b}	1 368±37^{a}	1 426±53^{a}	1 500±25^{a}	1 484±30^{a}
增重率 WGR/%	1 417±21^{ab}	1 445±33^{b}	1 425±10^{ab}	1 418±13^{ab}	1 356±13^{a}
特定生长率 SGR/(%/d)	4.85±0.02^{ab}	4.88±0.06^{b}	4.84±0.01^{ab}	4.85±0.02^{ab}	4.75±0.02^{a}
饲料系数 FCR	1.47±0.16^{b}	1.17±0.01^{a}	1.20±0.03^{a}	1.18±0.01^{a}	1.36±0.16^{ab}
成活率 SR/%	85.00±3.00^{a}	87.25±2.32^{a}	86.25±1.10^{a}	94.25±3.00^{b}	86.25±3.00^{a}

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

chinaXiv:201711.01838v1

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.1.2 饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾体组成的影响

由表 3 可知，D1～D4 组的全虾粗蛋白质含量显著高于 D5 组（P<0.05），且 D1～D4 组之间差异不显著（P>0.05）；D2 组的全虾粗脂肪含量显著高于 D1 和 D4 组（P<0.05），但与 D3 和 D5 组没有显著差异（P>0.05）；D2 和 D3 组全虾粗灰分含量显著高于 D1、D4 和 D5 组（P<0.05）；D2 和 D3 组之间差异不显著（P>0.05）；全虾粗灰分含量各组之间没有显著差异（P>0.05）。从凡纳滨对虾肌肉常规营养成分可以看出，D2、D3 和 D5 组的肌肉粗蛋白质含量显著高于 D1 和 D4 组（P<0.05），而肌肉水分、粗脂肪和粗灰分含量各组之间没有显著差异（P>0.05）。

表 3 饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾体组成的影响

Table 3 Effects of adding *Baclicus lincheniformis* or probiotics A to diet on body composition of white shrimp *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
全虾 Whole shrimp					
水分 Moisture	76.58±0.45	74.74±0.25	74.76±0.52	75.85±0.95	76.93±2.41
粗蛋白质 Crude protein	74.81±1.24^{b}	74.61±0.11^{b}	75.85±0.8^{b}	75.56±0.97^{b}	73.21±1.23^{a}
粗脂肪 Crude lipid	9.14±0.43^{ab}	10.53±0.36^{c}	10.13±0.97^{bc}	8.66±0.20^{a}	9.68±1.14^{abc}
粗灰分 Ash	14.65±0.20^{a}	13.61±0.62^{b}	13.06±0.25^{b}	14.57±0.41^{a}	14.74±1.56^{a}
肌肉 Muscle					
水分 Moisture	75.47±0.47	75.17±0.47	74.97±0.63	75.99±0.64	76.00±0.36
粗蛋白质 Crude protein	91.25±0.31^{a}	89.83±0.22^{b}	89.97±0.33^{b}	91.02±0.51^{a}	90.07±0.47^{b}
粗脂肪 Crude lipid	4.66±0.39	4.83±0.94	4.55±1.05	4.79±0.80	5.17±0.72
粗灰分 Ash	6.83±0.23	7.10±0.31	6.83±0.08	7.26±0.23	7.44±0.16

2.1.3 饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾肝胰腺免疫指标的影响

由表 4 可知，D4 组凡纳滨对虾肝胰腺 AKP 活性显著低于 D1 和 D5 组（P<0.05）；D3 组凡纳滨对虾肝胰腺 ACP 活性显著低于其他各组（P<0.05）；D1 和 D4 组凡纳滨对虾肝胰腺 LZM 活性显著高于其他各组（P<0.05），且 D3 和 D5 组也显著高于 D2 组（P<0.05）；饲

ChinaXiv合作期刊

料中添加地衣芽孢杆菌的 D2、D3 和 D4 组和添加益生菌 A 的 D5 组凡纳滨对虾肝胰腺 SOD 活性相比 D1 组均显著提高（*P*<0.05），且 D2、D5 组还显著高于 D3、D4 组（*P*<0.05）；随着地衣芽孢杆菌添加量的增加，凡纳滨对虾肝胰腺 MDA 含量随之降低，而肝胰腺 T-AOC 则升高，其中 D3 和 D4 组的肝胰腺 MDA 含量显著低于其他各组（*P*<0.05），D4 组的肝胰腺 T-AOC 显著高于其他各组（*P*<0.05）。

表 4　饲料中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 A 对凡纳滨对虾肝胰腺免疫指标的影响

Table 4　Effects of adding *Baclicus lincheniformis* or probiotics A to diet on hepatopancreas immune indices of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
碱性磷酸酶 AKP/（金氏单位/g prot）	0.44 ± 0.01^{b}	0.36 ± 0.01^{ab}	0.33 ± 0.06^{ab}	0.30 ± 0.04^{a}	0.45 ± 0.03^{b}
酸性磷酸酶 ACP/（金氏单位/g prot）	0.39 ± 0.01^{b}	0.48 ± 0.02^{b}	0.28 ± 0.02^{a}	0.37 ± 0.03^{b}	0.36 ± 0.06^{b}
溶菌酶 LZM/（U/mg prot）	38.28 ± 0.85^{c}	13.23 ± 1.05^{a}	26.34 ± 0.71^{b}	39.04 ± 2.76^{c}	28.30 ± 2.00^{b}
超氧化物歧化酶 SOD/（U/mg prot）	239.31 ± 5.36^{a}	365.66 ± 11.6^{c}	273.56 ± 6.36^{b}	273.93 ± 7.08^{b}	383.46 ± 9.74^{c}
丙二醛 MDA/（nmol/mg prot）	6.57 ± 0.48^{d}	4.84 ± 0.27^{c}	3.54 ± 0.25^{b}	1.64 ± 0.11^{a}	2.02 ± 0.25^{ab}
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot）	3.74 ± 0.49^{b}	2.13 ± 0.21^{a}	3.15 ± 0.15^{ab}	5.57 ± 0.25^{c}	2.43 ± 0.43^{a}

2.2 养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾生长性能和肝胰腺免疫指标的影响

2.2.1 养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 5 可知，养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾的终末均重、增重率、特定生长率、饲料系数、总摄食量均没有产生显著影响（*P*>0.05）。养殖水体中添加益生菌 B 的 d4 组凡纳滨对虾的成活率显著高于添加地衣芽孢杆菌的 d2 组（*P*<0.05），但与其他各组没有显著差异（*P*>0.05）。

表 5　养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾生长性能的影响

Table 5　Effects of adding *Baclicus lincheniformis* or probiotics B to aquaculture water on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups			
	d1	d2	d3	d4
初始均重 IBW/g	1.06±0.01	1.07±0.01	1.06±0.01	1.07±0.01

chinaXiv:201711.01838v1

终末均重 FBW/g	16.07±0.12	15.37±0.75	15.23±0.72	16.16±0.15
总摄食量 TF/g	1 657±47	1 495±130	1 581±144	1 712±13
增重率 WGR/%	1 417±21	1 336±69	1 331±68	1 414±20
特定生长率 SGR/(%/d)	4.85±0.02	4.75±0.09	4.74±0.09	4.85±0.02
饲料系数 FCR	1.47±0.16	1.48±0.02	1.45±0.08	1.41±0.02
成活率 SR/%	85.00±3.00[ab]	83.13±1.82[a]	87.50±1.41[ab]	89.79±2.08[b]

2.2.2 养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾肝胰腺免疫指标的影响

由表 6 可知，d3 组凡纳滨对虾肝胰腺 AKP 活性显著高于其他各组（P<0.05），而各组凡纳滨对虾肝胰腺 ACP 活性无显著差异（P＞0.05）；d2 组凡纳滨对虾肝胰腺 LZM 活性显著高于其他各组（P<0.05）；d2 和 d3 组凡纳滨对虾肝胰腺 SOD 活性显著高于 d1 和 d4 组（P<0.05）；随着养殖水体中地衣芽孢杆菌添加量的增加，凡纳滨对虾肝胰腺 MDA 含量随之降低，而肝胰腺 T-AOC 则升高，且养殖水体中添加地衣芽孢杆菌的 d2 和 d3 组凡纳滨对虾肝胰腺 MDA 含量显著低于其他各组（P<0.05），同时 d3 组凡纳滨对虾肝胰腺 T-AOC 显著高于 d1 和 d4 组（P<0.05），但与 d2 组没有显著差异（P＞0.05）。

表 6 养殖水体中添加地衣芽孢杆菌或益生菌 B 对凡纳滨对虾肝胰腺免疫指标的影响

Table 6 Effects of adding *Baclicus lincheniformis* or probiotics B to aquaculture water on hepatopancreas immune indices of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups			
	d1	d2	d3	d4
碱性磷酸酶 AKP/（金氏单位/g prot）	0.44±0.01[b]	0.30±0.02[a]	0.51±0.01[c]	0.32±0.03[a]
酸性磷酸酶 ACP/（金氏单位/g prot）	0.39±0.01	0.35±0.06	0.39±0.06	0.34±0.03
溶菌酶 LZM/（U/mg prot）	38.28±0.85[b]	57.99±4.55[c]	16.74±1.28[a]	17.01±3.15[a]
超氧化物歧化酶 SOD/（U/mg prot）	239.31±5.36[a]	447.54±27.11[b]	414.02±20.67[b]	259.53±13.89[a]
丙二醛 MDA/（nmol/mg prot）	17.68±0.69[c]	4.84±0.90[a]	3.96±0.60[a]	12.89±0.32[b]
总抗氧化能力	3.74±0.49[a]	4.16±0.89[ab]	4.46±0.78[b]	3.68±0.39[a]

chinaXiv:201711.01838v1

T-AOC/(U/mg prot）

3 讨 论

本试验共进行了 2 个子试验，分别在饲料和养殖水体中添加地衣芽孢杆菌，其中试验 1 研究结果表明，饲料中添加地衣芽孢杆菌的 D2、D3、D4 组凡纳滨对虾的终末均重、特定生长率和增重率显著高于添加益生菌 A 的 D5 组，较空白对照组有不同程度的提高但差异不显著，但 D2、D3、D4 组的饲料系数均显著低于空白对照组。刘泓宇等[17]的研究表明，饲料中添加益生菌对凡纳滨对虾的增重率和特定生长率均有不同程度的提高，但与对照组无显著差异；而丁贤等[18]和胡毅等[8]的研究结果同样是饲料中添加益生菌组凡纳滨对虾的特定生长率同对照组相比有提高但差异不显著。上述研究结果与本试验的研究结果相一致，在其他水产动物如暗纹东方鲀(*Fugu obscurus*)[19]、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)[20]上的研究也有类似结果。饲料中添加益生菌促进凡纳滨对虾生长应该与益生菌可以分泌消化酶并提高水产动物体内的消化酶的活性有关，这得到了国内外学者[17-19,21-23]的证实。此外，地衣芽孢杆菌的添加能提高凡纳滨对虾的成活率，且地衣芽孢杆菌添加量最高的 D4 组的成活率显著高于其他各组。这应该是与通过饲料进入到凡纳滨对虾体内并定植的地衣芽孢杆菌通过与有害微生物竞争，从而抑制了有害微生物的生长繁殖有关[4]。另外，本试验中，饲料中添加益生菌 A 的 D5 组凡纳滨对虾的终末均重、增重率和特定生长率均低于空白对照组，这可能与产品的菌种纯度和质量有关。

在试验 1 中，相比 D2 组，地衣芽孢杆菌添加量较高的 D3 和 D4 组在终末均重、特定生长率和增重率上反而有所降低，这可能与所添加地衣芽孢杆菌的量过高有关。而试验 2 直接向养殖水体中添加地衣芽孢杆菌对凡纳滨对虾的生长性能无显著影响，这和曹煜成[21]的研究结果有差异，这可能与试验动物和试验环境不同有关。此外，d2 组的成活率低于空白对照组组，并且显著低于 d4 组，这可能和试验过程中 d2 组部分养殖池进入大量雨水有关。

病害防治是凡纳滨对虾养殖过程中非常重要的一环，而溶酶体酶是凡纳滨对虾体液免疫的重要组成部分，主要包括 LZM、ACP、AKP、SOD 等。据报道，饲料中添加益生菌可以有效改善水产动物的免疫机能，这在虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）[24]、乌颊鱼（*Gilthead seabream*）[25]、三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)[26]等动物上均已得到证实。在试验 1 中，相比空白对照组，饲料中添加 0.3 或 3.0 mg/kg 地衣芽孢杆菌使得凡纳滨对虾肝胰腺 SOD 活性得到了有效提高，并降低了肝胰腺中 MDA 的含量，这和胡毅等[8]与刘泓宇等[17]的研究结果相一致，说明饲料中添加适量的地衣芽孢杆菌可以提高凡纳滨对虾的抗应激能力[27]。据报道，

chinaXiv:201711.01838v1

chinaXiv:201711.01838v1

养殖水体中添加地衣芽孢杆菌可以有效降解凡纳滨对虾的粪便，从而有效降低水体中的化学耗氧量（COD）和硝态氮（NO_3^--N）量[17]，张峰峰等[28]和曹煜成等[9]也有相似的结果。在试验 2 中，相比空白对照组，直接向养殖水体中添加地衣芽孢杆菌后凡纳滨对虾肝胰腺 SOD 活性和 T-AOC 均有得到提高，而肝胰腺 MDA 含量降低，这应该是添加在养殖水体中的益生菌通过对改善水环境因子，从而提高凡纳滨对虾自身的免疫能力。

4 结　论

在本试验条件下：

① 地衣芽孢杆菌无论是直接添加在饲料中还是直接泼洒在养殖水体中都能够提高凡纳滨对虾的免疫力。

② 综合考虑凡纳滨对虾的生长性能和免疫力，地衣芽孢杆菌在饲料或养殖水体中的添加效果优于益生菌 A 或益生菌 B。

③ 综合试验 1 和试验 2 的结果，地衣芽孢杆菌在凡纳滨对虾饲料中的添加量应控制在 0.3～3.0 mg/kg。

参考文献：

[1] NOMOTO K.Prevention of infections by probiotics[J].Journal of Bioscience and Bioengineering,2005,100(6):583–592.

[2] THOMPSON F L,ABREU P C,CAVALLI R.The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae[J].Aquaculture,1999,174(1/2):139–153.

[3] GATESOUPE F J.The use of probiotics in aquaculture[J].Aquaculture,1999,180(1/2):147–165.

[4] BALCÁZAR J L,DE BLAS I,RUIZ-ZARZUELA I,et al.The role of probiotics in aquaculture[J].Veterinary Microbiology,2006,114(3/4):173–186.

[5] 曹煜成,李卓佳,林小涛,等.地衣芽孢杆菌De株对凡纳滨对虾粪便的降解效果[J].热带海洋学报,2010,29(4):125–131.

[6] 曹煜成,文国樑,张华军,等.地衣芽孢杆菌对凡纳滨对虾 *Toll* 和 *HSP*70 基因表达的影响[J].中国微生态学杂志,2013,25(8):882–886.

[7] LI K,ZHENG T L,TIAN Y,et al.Beneficial effects of *Bacillus licheniformis* on the intestinal microflora and immunity of the white shrimp,*Litopenaeus vannamei*[J].Biotechnology Letters,2007,29(4):525–530.

[8] 胡毅,谭北平,麦康森,等.饲料中益生菌对凡纳滨对虾生长、肠道菌群及部分免疫指标的影

响[J].中国水产科学,2008,15(2):244–251.
[9] 曹煜成,李卓佳,杨莺莺,等.地衣芽孢杆菌De株对黄鳍鲷生长及其养殖池塘主要环境因子的影响[J].南方水产,2010,6(3):1–6.
[10] 曹煜成,李卓佳,林黑着,等.地衣芽孢杆菌De在优质草鱼养殖中的应用研究[J].南方水产,2008,4(3):15–19.
[11] AVELLA M A,GIOACCHINI G,Decamp O,et al.Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture[J].Aquaculture,2010,305(1/2/3/4):12–19.
[12]李卓佳，袁丰华，林黑着，等.地衣芽孢杆菌对尖吻鲈生长和消化酶活性的影响[J].台湾海峡，2011（1）:43-48.
[13]李晓英,董志国,阎斌伦,等.复合微生态制剂对中国对虾养殖池塘水质和生长性能的影响[J].中国饲料,2007(19):27–29.
[14] 宋学宏,耿秋慧,杨彩根,等.一种生物净水剂对河蟹养殖水体水质净化效果研究[J].水生学杂志,2009,2(6):89–93.
[15] 常传刚,张磊.芽孢杆菌在日本对虾育苗中的应用试验[J].齐鲁渔业,2010,27(9):16–17.
[16] AOAC.Official methods of analysis[M].16th ed.Arlington,VA:Association of Official Analytical Chemists,1995.
[17] 刘泓宇,李正,孙武卫,等.饲料中添加益生菌或植物提取物对凡纳滨对虾生长、免疫力及抗病力的影响[J].饲料工业,2014,35(12):21–26.
[18] 丁贤,李卓佳,陈永青,等.芽孢杆菌对凡纳对虾生长和消化酶活性的影响[J].中国水产科学,2004,11(6):580–584.
[19] 华雪铭,周洪淇,张宇峰,等.饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲀幼鱼生长及部分消化酶活性的影响[J].水生生物学报,2005,29(3):299–305.
[20] 张锦华,倪学勤,何后军,等.不同益生素对鲤鱼肠道蛋白酶、淀粉酶活力的影响[J].江西农业大学学报,2005,27(4):513–516.
[21] ZIAEI-NEJAD S,REZAEI M H,TAKAMI G A,et al.The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity,survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*[J].Aquaculture,2006,252(2/3/4):516–524.
[22] 曹煜成,李卓佳,冯娟,等.地衣芽孢杆菌 De 株之胞外产物对凡纳滨对虾淀粉酶活性影响的体外研究[J].台湾海峡,2007,26(4):536–542.

chinaXiv:201711.01838v1

[23] 姚东林,邹青,刘文斌,等.地衣芽孢杆菌和低聚木糖对草鱼生长性能、肠道菌群和消化酶活性的影响[J].大连海洋大学学报,2014,29(2):136–140.

[24] KIM D H,AUSTIN B.Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*,Walbaum) induced by probiotics[J].Fish & Shellfish Immunology,2006,21(5):513–524.

[25] SALINAS I,DÍAZ-ROSALES P,CUESTA A,et al.Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate immune parameters of a teleost fish (*Sparus aurata* L.)[J].Veterinary Immunology and Immunopathology,2006,111(3/4):279–286.

[26] 沈文英,余东游,李卫芬,等.地衣芽孢杆菌对三角帆蚌消化酶活性、免疫指标和抗氧化指标的影响[J].动物营养学报,2009,21(1):95–100.

[27] RENGPIPAT S,RUKPRATANPORN S,PIYATIRATITIVORAKUL S,et al.Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11)[J].Aquaculture,2000,191(4):271–288.

[28] 张峰峰,谢凤行,赵玉洁,等.枯草芽孢杆菌水质净化作用的研究[J].华北农学报,2009,24(4):218–221.

Effects of Adding *Baclicus lincheniformi* to Diet or Aquaculture Water on Growth Performance and Immunity of *Litopenaeus vannamei*

LIU Qiangqiang[1,2]　CHEN Xu[2]　XIE Jiajun [2,3]　ZHANG Lin[4]　NIU Jin [1,5*]

（1. *Tianjin Agricultural University*, *Tianjin* 300384, China; 2. *South China Sea Fishieres Research*, *Chinese Academy of Fishery Sciences*, *Guangzhou* 510300, *China*; 3. *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 4. *DSM (China) Co., Ltd.*, *Shanghai* 201203, *China*; 5. *Sun Yat-Sen University*, *Guangzhou* 510300, *China*）

Abstract: Two trials were conducted to investigate the effects of adding *Baclicus lincheniformi* to diet or aquaculture water on growth performance and immunity of *Litopenaeus vannamei*. The average initial body weight of *Litopenaeus vannamei* in the two trials was about 1.06 g. In trial 1, shrimps in five groups were fed five experimental diets with different levels of *Baclicus lincheniformi* or probiotics A (D1 group, as blank control group: not adding probiotics; D2 group: adding 0.3 mg/kg *Baclicus lincheniformi*; D3 group: adding 3.0 mg/kg *Baclicus lincheniformi*; D4

*Corresponding author, associate professor, E-mail： gzniujin2003@163.com (责任编辑　菅景颖)

chinaXiv:201711.01838v1

group: adding 30.0 mg/kg *Baclicus lincheniformi*; D5 group, as positive control group: adding 80.0 mg/kg probiotics A, probiotics A was market complex-probiotics-preparation). In trial 2, shrimps in four groups were all fed the diet of D1 group. Before the trial started, added 0 (d1 group, that was D1 group), 0.4 (d2 group), 4.0 mg *Baclicus lincheniformi* (d3 group) and 40.0 mg probiotics B (probiotics B was market complex-probiotics-water purifying agent; d4 group, as positive control group) to the aquaculture water in concrete tank (1 m×1 m×1 m, and effective water depth was 0.7 m), and then added 0, 0.2, 2.0 mg *Baclicus lincheniformi* and 20.0 mg probiotics B to the aquaculture water every 7 days, respectively. Each group had six concrete tanks and each concrete tank had eighty shrimps. The feeding time of trials 1 and 2 were all 8 weeks. The results of trial 1 were showed as follows: the final average body weight (FBW) of shrimps from D1 to D4 groups was significantly higher than that from D5 group (P<0.05), and no significant differences were found among D1 to D4 groups (P>0.05). The specific growth ratio (SGR) and weight gain rate (WGR) of shrimps from D2 group were significantly higher than those from D5 group (P<0.05), but without significant differences compared with D1, D3 and D4 groups (P>0.05). The feed conversion ratio (FCR) of shrimps from D2, D3 and D4 groups was significantly lower than that from D1 group (P<0.05), but without significant difference compared with D5 group (P>0.05). The survival rate (SR) of shrimps from D4 group was significantly higher than that from other groups (P<0.05). The hepatopancreas superoxide dismutase (SOD) of shrimps from D2 and D5 groups was higher, and significantly higher than that from other groups (P<0.05). The hepatopancreas total antioxidant capacity (T-AOC) of shrimps from D4 group was the highest, and significantly higher than that from other groups (P<0.05). The hepatopancreas malondialdehyde (MDA) content was decreased with the dietary *Baclicus lincheniformi* supplemental amount increasing, the hepatopancreas MDA content from D4 group was the lowest, and significantly lower than that from D1, D2 and D3 groups (P<0.05), but without significant difference compared with D5 group (P>0.05). The results of trial 2 showed as follows: adding *Baclicus lincheniformi* to aquaculture water had no significant effects on FBW, WGR, SGR and FCR (P<0.05). The hepatopancreas alkaline phosphatase (AKP), SOD activities and T-AOC of shrimps from d2 group were the highest, and significantly higher than those from other groups (P<0.05). The hepatopancreas lysozyme (LZM) activity of shrimps from d2 group was the highest,

chinaXiv:201711.01838v1

and significantly higher than that of shrimp from other groups (*P*<0.05). The hepatopancreas MDA content of shrimps from d1 group was the highest, and significantly higher than that of shrimps from other groups (*P*<0.05). In conclusion, the *Baclicus lincheniformi* can improve the immunity of *Litopenaeus vannamei* by means of adding *Baclicus lincheniformi* to diet or aquaculture water; the *Baclicus lincheniformi* adding to diet or aquaculture water has better effect than probiotics A or probiotics B with considering the growth performance and immunity of *Litopenaeus vannamei*; moreover, the supplemental amount of *Baclicus lincheniformi* in the diet of *Litopenaeus vannamei* should be controlled to 0.3 to 3.0 mg/kg base on consider the results of trials 1 and 2.

Key words: *Baclicus lincheniformi*; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; immunity

chinaXiv:201711.01838v1